合成黑翅土白蚁踪迹信息素类似物的生物活性

邓晓军[1]，张珈敏[1]，胡建芳[1]，杨　娟[1]，胡远杨[1*]，郑　穹[2]
（1. 武汉大学生命科学学院，武汉　430072；2. 武汉大学化学和分子科学学院，武汉　430072）

摘要：合成了黑翅土白蚁踪迹信息素类似物（*Z*，*Z*）-3，6-十二碳二烯醇-1（DDE—OH），该类似物对黑翅土白蚁工蚁具有和信息素提取物类似的行为反应。活性反应阈值为 10^{-3}～10 ng/cm，大于 10 ng/cm 时产生较强的驱避作用。最佳活性浓度 DDE—OH 与信息素提取物的活性反应之间没有显著差别。

关键词：黑翅土白蚁；合成类似物；生物活性
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）06-0739-04

Biological activity of a synthetic trail-pheromone analogue of the black-winged subterranean termite，*Odontotermes formosanus* Shiraki

DENG Xiao-Jun[1]，ZHANG Jia-Min[1]，HU Jian-Fang[1]，YANG Juan[1]，HU Yuan-Yang[1*]，ZHENG Qiong[2]（1. College of Life Science，Wuhan University，Wuhan　430072，China；2. College of Chemical and Molecular Science，Wuhan University，Wuhan　430072，China）

Abstract: A kind of trail-pheromone analogue（（*Z*，*Z*）-dodeca-3，6-dien-1-ol，DDE—OH）of the black-winged subterranean termite，*Odontotermes formosanus* Sharaki was synthesized. Active concentrations（10^{-3}－10 ng/cm）of this pheromone elicited similar behavior in worker termites as natural pheromone extract. There was no significant difference between the response of workers to synthetic and natural pheremones（$P > 0.05$）. When the concentration of synthetic analogue was higher than 10 ng/cm it had some repellent effect on termite individuals.

Key words: *Odontotermes formosanus*; pheromone analogue; biological activity

黑翅土白蚁 *Odontotermes formosanus* Shiraki 属等翅目土白蚁科，是白蚁主要危害种。主要分布于我国南方各省市，对水利、土建设施的破坏最为严重（钟登庆和陈振耀，1997）。防治土白蚁经常采用的化学方法会带来一系列的环境问题，而用信息素防治害虫具有高效、无毒、无污染、不伤益虫等优点，因此对于土白蚁这种危害性很大的害虫，采用信息素防治具有很大的应用前景。目前国内对于白蚁信息素的研究，主要是利用信息素粗提物，无法满足大规模实际应用的要求。Tai 等早在 1971 年，在研究南方地下散白蚁 *Reticulitermes virginicus* 踪迹信息素时，就首先报道了一种踪迹信息素类似物（*Z*，*Z*）-3，6-十二碳二烯醇-1（DDE—OH），具有与天然信息素（*Z*，*Z*，*E*）-3，6，8-十二碳三烯醇（DTE—OH）几乎相同的活性，但却更加稳定和容易合成，并初步提出利用该类似物的构想（Tai *et al*.，1971）。以后发现该信息素类似物对黑翅土白蚁具有较高的生物活性，明显强于密褐褶孔菌和腐木块提取液，但是没有进行进一步的活性测试（杜桐源等，1982）。本文作者首次在实验室合成了该信息素类似物，并且系统研究了对黑翅土白蚁的活性反应，为应用合成信息素类似物来防治白蚁进行了探索。

1　材料和方法

1.1　（*Z*，*Z*）-3，6-十二碳二烯醇-1 的化学合成

1.1.1　仪器和试剂：美国 Nicolet 170 SX FI-IR 红外光谱仪，美国 Varian Mercury-VX300Q 核磁共振仪，山东鲁南化工仪器厂 SP-502 型气相色谱仪（5% OV-17 固定相，氢火焰离子化检测器）。美国 HP58902/HP5970B 气相色谱/质谱连用仪。试剂：

基金项目：武汉市科委赞助项目
作者简介：邓晓军，男，硕士，从事白蚁生物防治体系的研究，E-mail：wueml@whu.edu.cn
* 通讯联系人 Author for correspondence
收稿日期 Received：2001-12-24；接受日期 Accepted：2002-06-19

丙炔醇，正溴戊烷为常州新华活性材料研究所产品；3-丁炔醇-1 为 ACROS 公司产品。

1.1.2 （Z，Z）-3，6-十二碳二烯醇-1 的化学合成：以丙炔醇和正溴戊烷为原料，在氨基锂的作用下合成 2-辛炔醇-1，后者在三溴化磷作用下进行溴代反应。然后在亚铜离子为催化剂和乙基溴镁的作用下和 3-丁炔醇-1 反应生成3，6-十二碳二炔醇，最后通过 Lindlar 催化剂进行选择性顺式加氢。总产率为 42%。最后产物为无色油状液体。GC 纯度为 94.3%。合成途径如下：

$$HC{\equiv}CCH_2OH + CH_3(CH_2)_3CH_2Br \xrightarrow[NH_3]{LiNH_2}$$

$$CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2OH \xrightarrow{PBr_3} CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2Br$$

$$\xrightarrow[EtMgBr \quad Cu^+]{HC{\equiv}CCH_2CH_2OH} CH_3(CH_2)_4C{\equiv}CCH_2C{\equiv}CCH_2CH_2OH$$

$$\xrightarrow[H_2]{Lindlar} CH_3(CH_2)_4CH \overset{(Z)}{=} CHCH_2CH \overset{(Z)}{=} CHCH_2CH_2OH$$

1.1.3 产物的红外、核磁数据如下：IR（压膜法）3 320 ~ 3 500 cm^{-1}（OH），2 850 ~ 3 050 cm^{-1}（双键和甲基亚甲基），730 cm^{-1}（顺式双键），^1H—NMR δ 0.89（3H，CH_3）1.21 ~ 1.46（6H，$(CH_2)_3$）2.10（2H，$CH_2CH{=}CH$）2.35（2H，$CH{=}CHCH_2$）2.90（2H，CH_2OH）3.80（2H，$=CHCH_2CH=$）5.60（4H，$CH{=}CHCH_2CH{=}CH$），元素分析：$C_{12}H_{22}O$ 计算值：C = 79.06 H = 12.16，实测值：C = 78.74 H = 12.30；质谱：182（M^+）、164（$M^+ - 18$）。

1.2 生物活性测试

1.2.1 供试昆虫和化学试剂：实验用黑翅土白蚁采于武汉大学校园内，25 ± 2℃下用干净的湿滤纸培养 48 h；正己烷（分析纯）由武汉江北化学试剂厂生产。

1.2.2 信息素的提取：参照 Peppy 等（2001）的方法，黑翅土白蚁工蚁 5 g（约 230 头），4℃于 10 mL 重蒸正己烷浸泡 24 h，取上清液。以该溶液浓度为 1 个标准活性单位（active unit，AU）进行浓缩和稀释，－20℃保存备测。

1.2.3 生测方法：（1）Figure-Y 法（Peppy *et al*.，2001）：在直径为 15 cm 的定性滤纸上用细铅笔划一Y 形，底部主干长 3 cm，两条分支分别为 10 cm，三条边夹角为 120°，信息素线用 10 μL 微量注射器按 13 μL/13 cm 量划定，滤纸上盖一直径为 18 cm 的玻皿以防止干扰；测试前将白蚁置于直径 5 cm 的培养皿中稳定 2 h；温度 28 ± 1℃，相对湿度（80 ± 10）%，每个样品重复 30 次，滤纸和受试白蚁只使用一次；以跟踪平均距离大于 3 cm 作为有跟踪反应的标准，最大跟踪距离为 13 cm；同时测量受试白蚁完成整个跟踪过程的时间，以检测该样品的引诱作用；结果用 Student *t*-test 分析（$P < 0.05$），平均值 ± 标准差（$\overline{X} \pm SD$）表示。（2）玻缸法（何复梅等，1997）：取 2 个直径为 25 cm，高度为 10 cm 的玻缸，底部均匀铺设厚度为 1 cm 无菌河沙（小于 60 目），滴加 6 mL 蒸馏水，沿缸壁等距离安排 2 个玻片（2 cm × 2 cm），分别放置被测样品和对照溶剂样品，并滴加适量蒸馏水以保持其湿度；在玻片上盖一小玻杯（直径 3 cm）以防止样品间干扰；玻缸内分别放入稳定后黑翅土白蚁工蚁 100 头，观察白蚁搬移河沙进入玻杯和构筑蚁路的情况。

2 结果与讨论

2.1 黑翅土白蚁对信息素提取物和合成类似物 DDE—OH 的跟踪活性反应

黑翅土白蚁工蚁对信息素提取物和 DDE—OH 跟踪活性反应的测试结果如图 1 所示。活性反应的阈值分别为：10^{-4} ~ 100 AU 和 10^{-3} ~ 10 ng/cm，最佳活性浓度分别为：1 AU（$\overline{X} \pm SD = 8.4 \pm 2.5$ cm，$N = 30$）和 10^{-1}ng/cm（$\overline{X} \pm SD = 8.1 \pm 3.1$ cm，$N = 30$）。Student-*t* 分析表明，在 $P \leqslant 0.05$ 水平，最佳浓度条件下，黑翅土白蚁工蚁对提取物和合成信息素类似物（DDE—OH）的反应没有显著差别。

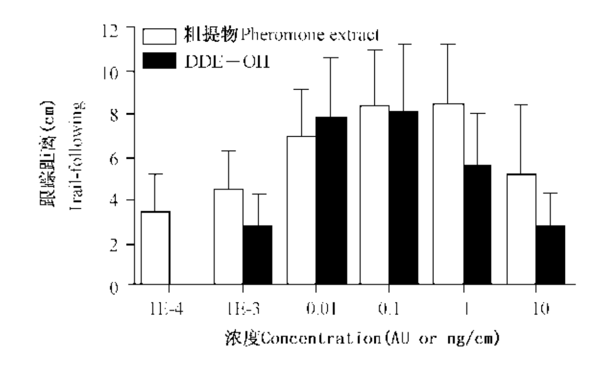


图 1 黑翅土白蚁工蚁对信息素提取物和合成信息素类似物 DDE—OH 的跟踪活性反应

Fig. 1 Trail-following of workers of *O. formosanus* to pheromone extract and the synthetic analogue

2.2 黑翅土白蚁对信息素提取物和合成类似物 DDE—OH 的行为反应

在信息素活性阈值内，黑翅土白蚁在移开表面皿$\overline{X} \pm SD = 56.4 \pm 48.7$ s（$N = 150$）后就可以感受到信息素踪迹的存在，个体表现较为兴奋。跟踪过程中在 Y 路径的分叉点有的个体会产生犹豫，在用触角感受后再继续沿信息素踪迹爬行。信息素提取物在浓度为 0.1 AU 时，黑翅土白蚁完成整个测试的时间最快：$\overline{X} \pm SD = 61.3 \pm 32.7$ s（$N = 30$），在活性阈值外时间随个体变化差异很大。对于 DDE—OH，最快时间出现在浓度为 1 ng/cm，$\overline{X} \pm SD = 77.5 \pm 40.6$ s（$N = 30$），在阈值范围内行为反应和信息素提取物类似，但是在浓度大于 10 ng/cm，则表现为较强的驱避作用。玻缸法实验表明，白蚁在进入 1 AU 信息素提取物和 0.1 ng/μL 浓度 DDE—OH 处理后的玻缸后，开始 24 h 内，在缸内搬运河沙，感受到信息素后，便开始构筑蚁路进入玻杯内，并且聚集到滴加样品的滤纸上，信息素提取物和 DDE—OH 在 48 h 后被引诱进入玻杯的白蚁均达到几十头，对照溶剂玻杯内基本没有白蚁进入。

2.3 黑翅土白蚁对信息素提取物和合成类似物（DDE—OH）跟踪活性反应随时间的变化

最佳活性浓度下，黑翅土白蚁工蚁对信息素提取物和 DDE—OH 跟踪活性随时间变化结果如图 2 所示。提取物和 DDE—OH 都可以在较长的时间里保持其活性。但是 DDE—OH 在 12 h 后基本上没有跟踪活性。从变化趋势来看，在提取物中可能存在其可以维持信息素的活性的物质。但是工蚁完成跟踪过程的时间没有显著不同（$P > 0.05$）。

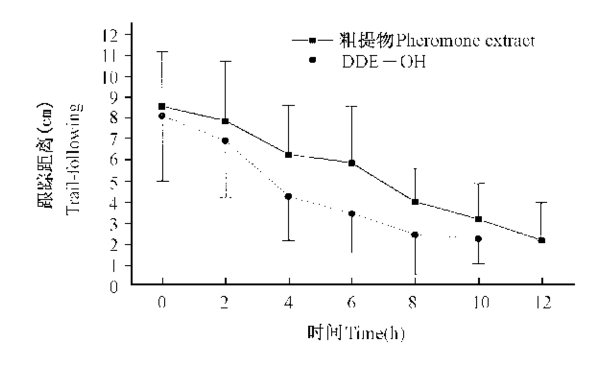


图 2 黑翅土白蚁工蚁对粗提物和 DDE—OH 活性反应随时间的变化

Fig. 2 Change in response of workers of *O. formosanus*

3 讨论

迄今为止，已确定的白蚁踪迹信息素主要为两种物质：在鼻白蚁科 Rhinotermitidae 一些种群中发现的（顺，顺，反）-3，6，8-十二碳三烯-1-醇（DTE—OH）和在象白蚁科 Nasutitermitidae 的不同种群内发现的 Neocembrene-A（一种二萜烯类）（Laduguie *et al*., 1994）。其中，DTE—OH 对从低等的散白蚁科到高等的大的蚁科的许多种属都有跟踪活性，是踪迹信息素的主要组分。DDE—OH 比 DTE—OH 只缺少 8 位的一个反式双键，但是在空间结构上十分类似，相对于其它类似物和 DTE—OH 的同系物，其活性浓度与天然信息素活性没有数量级的差别而且更加稳定和容易合成。而且由于类似物在结构上较天然信息素更有利于研究结构-活性关系，对了解信息素结合蛋白的结构以及信息素种间隔离在分子水平的表达等有很大的帮助。

Hall 等在 1985 年将白蚁踪迹信息素的感受行为分为两种：定向（orientation）和征召（recruitment）。本实验生测结果表明：在活性阈值内，DDE—OH 可以产生类似信息素提取物的跟踪和征召作用。在最佳活性浓度，黑翅土白蚁工蚁对 DDE—OH 的活性反应和信息素提取物没有显著差别（$P > 0.05$）。但是在 DDE—OH 浓度大于 10 ng/cm 时，工蚁会产生较为强烈的排斥反应，说明 DDE—OH 在较高浓度时表现为一定程度的趋避作用。并且，DDE—OH 活性随时间降低的趋势较信息素提取物明显，可能是在信息素提取物中有维持跟踪活性的物质存在。随时间的变化，工蚁跟踪时间没有出现显著不同，可能是由于信息素中含有的挥发性物质由于玻璃器皿的覆盖没有散去的缘故。因此黑翅土白蚁踪迹信息素可能只有一种活性物质。

采用提取信息素或类似物结合化学杀虫剂制作诱杀包防治土白蚁已有很多报道（何复梅等，1997；余春仁等，1999），DDE—OH 对黑翅土白蚁具有与信息素提取物类似的引诱和跟踪作用，完全可以作为替代物，而且由于化学合成量大易得，可以进行大面积的应用。相对于化学防治而言，生物防治持续期更长，而且不会带来环境问题，土白蚁生活的黑暗阴湿环境似乎有利于外来病源性微生物的生长（格瑞斯，2000）。因此，采用合成信息素类似物结合微生物的生物防治系统必将成为白蚁防治的前沿方向。但是，白蚁信息素是一个复杂的多组分体系，即便是对于单活性组分系统，也可能存在其它物质与活性组分之间存在不同的相互作用。因此，对信息素类似物的研究还有待完善，例如延长活性时间、增大引诱作用等。

参 考 文 献 (References)

Du T Y, Luo J Z, Tang M L, Chen-Liang M Y, 1982. On the trail-following substance of black-winged subterranean termite (*Odontotermes formosanus* (Shiraki)). *Acta Entomol. Sin.*, 25 (2): 172 – 177. [杜桐源, 罗钧泽, 汤敏玲, 陈梅英, 1982. 黑翅土白蚁的跟踪信息素. 昆虫学报, 1982, 25 (2): 172 – 177]

Grace K, 2000. Strategy of biological control on termite. *Science and Technology of Termite*, 17 (4): 34 – 38. [肯尼泽·格瑞斯, 2000. 白蚁的生物防治策略. 白蚁科技, 17 (4), 34 – 38]

Hall P, Traniello J F A, 1985. Behavioral bioassays of termite trail pheromones: recruitment and orientation effects of cembrene-A in *Nasuitermes costalis* (Isoptera: Rhinotermitidae) and discussion of factors affecting termite response in experimental contexts. *J. Chem. Ecol.*, 11 (11): 1 503 – 1 514.

He F M, Dai Z R, Liang J Y, Huang Z Y, Li L, Xia C G, Zhong J H, 1997. Studies on using analogue of trail pheromone in *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *Natural Enemies of Insect*, 19 (2): 70 – 74. [何复梅, 戴自荣, 梁锦英, 黄珍友, 李理, 夏传国, 钟俊鸿, 1997. 家白蚁跟踪信息素类似物及其利用研究. 昆虫天敌, 19 (2): 70 – 74]

Laduguie N, Robert A, Bonnard A, Vieau F, Lequere J L, Semon E, Bordereau C, 1994. Isolation identification of (3*Z*, 6*Z*, 8*E*) -3, 6, 8-dodecatrien-1-ol in *Reticulitermes sanonensis* Fytaud (Isoptera, Rhinotermitidae): roles in worker trail-following and in alate sex-attraction behavior. *J. Insect Physiol.*, 40 (9): 781 – 789.

Peppy A, Robert A, Semon E, Ginies C, Ginies C, Lettere M, Bonnard O, Bordereau C, 2001. (*Z*)-dodec-3-en-1-ol, a novel termite trail pheromone identified after solid phase microextraction from *Macrotermes annandalei*. *J. Insect Physiol.*, 47: 445 – 453.

She C R, Pan R Y, Xie X M, Yuan R F, 1999. Biological activity of crude extracts from trace pheromone of *Coptotermes formosanus* Shiraki and its application. *Entomol. Knowledge*, 36 (2): 91 – 94. [佘春仁, 潘蓉英, 谢学梅, 原瑞芬, 1999. 台湾乳白蚁跟踪信息素粗提物活性与应用研究. 昆虫知识, 36 (2): 91 – 94]

Tai A, Matsumura F, Coppel H C, 1971. Synthetic analogues of the termite trail-following pheromone structure and biological activity. *J. Insect Physiol.*, 17: 181 – 188.

Zhong D Q, Chen Z Y, 1997. A study on *Odontotermes formosanus* Shiraki to injure the soiled water conservancy projects. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 36: 138 – 142. [钟登庆, 陈振耀, 1997. 黑翅土白蚁危害水利土建工程的研究. 中山大学学报(自然科学版), 36: 138 – 142]